

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2023年5月31日

採択番号	2022-共同-11		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	福本 晋也
研究課題名	ネズミマラリア原虫における Brca2 による雌ガメートサイトへの分化		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	よしかわ やすなが 吉川 泰永	北里大学獣医学部・准教授	
研究分担者			
	ふくもと しんや 福本 晋也	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2022年4月1日 ~ 2023年3月31日		
目的・趣旨	<p>マラリア原虫における雌雄ガメートサイトへの分化は、マラリア原虫の生活環において必須のステージである。我々は相同組換え修復に関する Brca2 の研究を行ってきた。ネズミマラリア原虫においても Brca2 の特徴をもつタンパク質がデータベース上に存在したので、ノックアウト原虫を作製した。予想外なことに、ノックアウト原虫において雌雄ガメートサイト比率が変化し、雌ガメートサイトへの分化が抑制される結果が得られた。そこで本研究では、ネズミマラリア原虫において Brca2 がどのように雌ガメートサイトへの分化に貢献しているのかを解明することを目的とした。</p>		
研究経過の概要	<p>貴研究センターの福本先生に Brca2 のノックアウト原虫を作製していただき、吉川がこのノックアウト原虫の解析を行ってきた。</p> <p>5月に貴研究センターを訪問した上で福本先生と研究内容についてディスカッションを行った。さらに、適宜、メールによるディスカッションを行い、共同研究を遂行した。</p> <p>その結果、以下の研究成果の概要に示すようにマラリア原虫における Brca2 の重要性が徐々に明らかになり始めてきた。2022年度にはこれまでに得られた成果を論文にまとめ発表し、さらに第91回日本寄生虫学会大会や第165回日本獣医学会学術集会において学会発表を行った。</p>		

<p>研究成果の 概 要</p>	<p>Brca2 のドメインの機能解析</p> <p>前年度までに Brca2 ノックアウト原虫において赤血球感染率の低下とマウスに対する病原性が低下することを示した。さらに、ガメートサイトの形成数、接合した後のオーカイネート形成数およびオーシスト形成数が低下することを示し、このオーシストにはスポロゾイトが形成されないことも観察した。</p> <p>今年度は、マラリア原虫 Brca2 のどの領域が発見した表現型、特にガメートサイトの分化に必要であるか解析するために全長 Brca2 のクローニングを試みた。しかしながら、全長 Brca2 のクローニングには現在までのところ成功していない。これはマラリア原虫の遺伝情報が AT リッチなため大腸菌で増幅しにくいためと予想された。そこで、全長ではなく、Brca2 のドメインの一部をクローニングし、野生型ネズミマラリア原虫に導入する計画を考えた。マラリア原虫 Brca2 のドメインとして、相同組換え酵素 Rad51 と相互作用する領域である BRC repeats と呼ばれるドメインと DNA と相互作用する可能性がある OB-Tower ドメインのクローニングに成功した。これらのドメインは、赤色蛍光タンパク質である DsRed-Monomer との融合タンパク質を発現するベクターにクローニングした。現在、ネズミマラリア原虫にトランスフェクトすることを試みている。</p> <p>ネズミマラリア原虫 Brca2 の OB-Tower ドメインは、AlphaFold2 による立体構造解析により、ヒト BRCA2 の OB-Tower ドメインと類似している領域として推定した。立体構造として DNA と相互作用する可能性が高いと考えられるが、実際に DNA との相互作用は証明されていない。そこで、リコンビナントタンパク質を発現、精製して、実際に DNA と相互作用することを <i>in vitro</i> において確認する計画を立てた。この解析に必要なリコンビナントタンパク質を発現するためのベクターを現在、構築中である。</p>
<p>研究成果の 発 表</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Yoshikawa Y</u>, Kimura S, Soga A, Sugiyama M, Ueno A, Kondo H, Zhu Z, Ochiai K, Nakayama K, Hakozaiki J, Kusakisako K, Haraguchi A, Kitano T, Orino K, Fukumoto S, Ikadai H. <i>Plasmodium berghei</i> Brca2 is required for normal development and differentiation in mice and mosquitoes. <i>Parasit Vectors</i>. 15(1):244. (2022) 査読有 2. 木村 駿太、<u>吉川 泰永</u>、曾賀 晃、杉山 真言、朱 子達、他 5 名, <i>Plasmodium berghei</i>(ネズミマラリア原虫)における減数分裂関連タンパク質 Brca2 の機能解析, 第 165 回日本獣医学会学術集会, 2022 年 9 月 3. <u>吉川 泰永</u>、木村 駿太、曾賀 晃、杉山 真言、朱 子達、他6名, ネズミマラリア原虫 <i>Plasmodium berghei</i> における相同組換えタンパク質 Brca2 機能解析, 第 91 回日本寄生虫学会大会, 2022 年 5 月